

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Biologie
Option : Génie Biologie



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

Ingénieur d'Etat en Génie Biologie

Thème

**Contribution a l'étude de la qualité
microbiologique et physico-chimique du
fromage traditionnel en Algérie
« Bouhezza »**

Présenté par :
M^{elle} SMAILI SALIMA ET RAHMOUNI ROUZINA

Soutenu le : **14 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

M ^{me} CHIBANE. N	MAA	Présidente
M ^{me} BENACHOUR. K	MAA	Examinatrice
Mr BENJEDOU. K	MCB	Encadreur

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

*D'abord nous tenons à remercier, le bon Dieu de nous
avoir donné la force et la volonté pour réaliser et accomplir ce modeste*

Travail.

*Nous exprimons nos remerciements à notre promoteur M^r BENDJEDOU. K
d'avoir accepter de nous encadrés, et de nos avoir diriger.*

*Nous adressons toute notre gratitude à M^{lle} CHIBANE.N
et M^{me} BENACHOUR .K d'avoir accepter de juger ce travail et d'avoir
participer au jury de ce mémoire.*

*Merci à tous ceux qui ont participé de loin au de près à ce travail, qu'ils
trouvent ici notre profonde reconnaissance.*

*Enfin nos remerciements sont dressés plus particulièrement à nos familles et
nos amis(es) qui ont su nous soutenir, nous encourager, nous aider et nous
supporter tout au long des années.*

Dédicace II

Je dédié cette simple contribution à :

Mon cher père et ma chère mère

Mes chers frères

Mes chères sœurs

Mes amis

Et tous les étudiants de notre promotion

Salima

Dédicace I

Je dédié cette simple contribution à :

Mes chers parents

Mes chères sœurs

Mes chers freres

Mes amis

Et tous les etudiants de notre promotion

Rouzina

SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....	1
-------------------	---

Synthèse bibliographique

I-Généralités sur les fromages.	3
I-1-Historique.....	3
I-2-Intérêt nutritionnel et composition du fromage.....	3
I-3-Classification des fromages.....	4
I-3-1- Fromages frais à pâte fraîche	4
I-3-2-Fromages à double présentation.....	4
I-3-3-Fromage à pâtes persillées	5
I-3-4-Fromage à pâte molles	5
I-3-5-Fromage à pâte pressées.....	5
I-3-6-Fromage pâte pressée cuite	5
II- fabrication du fromage.....	5
II-1-Matière première	5
II-1-1-le lait	5
II-2-fabrication du fromage	6
II-2-1-La coagulation	6
II-2-2-Egouttage du caillé	7
II-2-3-Le salage	7
II-2-4-L'affinage	8
III-les fromages traditionnels en Algérie	8
III-1-Définition du Bouhezza.....	8

IV- Classification des micro-organismes du fromage.....	8
IV-1-Les micro-organismes utiles	9
IV-2-Micro-organismes responsable d'altération	9
IV-3-Microorganismes potentiellement pathogènes	10

Matériel et méthodes

I-Objectifs des analyses	11
II-Analyses microbiologiques	11
II-1-Origine de l'échantillon.....	11
II-2-Echantillonnage.....	12
II-3-Préparation de la solution mère.....	12
II-4-Préparation des déluitions.....	12
II-5-Dénombrements.....	13
II-5-1-Dénombrement de la Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM)	13
II-5-2-Dénombrement des bactéries lactiques	14
• Dénombrement des lactobacilles	14
• Dénombrement des streptocoques lactiques	15
II-5-3- Dénombrement des coliformes totaux	15
II-5-4-La mise en évidence d' <i>E.coli</i>	16
II-5-5-Dénombrement des streptocoques totaux.....	17
II-5-6-Recherche des Streptocoques fécaux.....	18
II-5-7- Dénombrement des Staphylocoques	19
II-5-8- Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i>	19
II-5-9- Levures et moisissures.....	20
II-6-Analyses physico-chimique	21
II-6-1-Le pH	21
II-6-2-Acidité Dornic.....	21
II-6-3-La teneur en matière sèche.....	22

Résultats et discussions

I-Enquête réalisée sur le fromage traditionnel algérien Bouhezza	23
I-1-Les méthodes de la fabrication de Bouhezza.....	23
I-1-Fabrication du fromage Bouhezza.....	23
II-Contrôle de la Qualité microbiologique	24
II-1-Dénombrement de la Flore aérobie mésophile totale (FTAM)	25
II-2-Dénombrement de la flore lactique.....	25
II-2-1-Dénombrement des Lactobacilles.....	25
II-2-2-Dénombrement des streptocoques lactiques.....	25
II-3- Dénombrement Les streptocoques totaux.....	26
II-4- Dénombrement Les streptocoques fécaux	26
II-5- Dénombrement des coliformes totaux	26
II-6-Recherche d' <i>E.coli</i>	27
II-7-Dénombrement des Staphylocoque.....	27
II-8-Recherche du <i>Staphylococcus aureus</i>	27
II-8-Dénombrement des Levures et moisissures.....	27
III- Qualité physico-chimique.....	28
III-1- pH et l'acidité titrable	28
III-2- Teneur en matière sèche.....	28
Conclusion.....	30

Annexes

Références bibliographiques

Liste des abréviations

°D : degré dornique

E.coli : *Escherichia coli*

Ech : Echantillon

g: Gramme

MRS: Man Rogoza shar

PCA : Plate Count Agar

pH : potentiel hydrogène

UFC : Unité Formant

NPP : nombre plus probable

Introduction

Les aliments traditionnels font partie du patrimoine de chaque peuple et nous rencontrons et vivons des recettes, entourées d'un savoir-faire ancien transmis de génération en génération. Parmi ces aliments, les fromages traditionnels, dont il existe plus de 1000 variétés produits à l'échelle mondiale (Fox *et al.*, 2000, Halagulo *et al.*, 2002, Irlinger et Mounier, 2009).

La production des fromages artisanaux, surtout ceux à base de lait crue, est fortement liée au terroir, par le biais de la composition du lait tant dans sa composante biochimique que microbiologique (Michel *et al.*, 2001).

Cette composante microbiennes, qualifiée de naturelle ou indigènes permet de préserver la typicité et une certaine diversité sensorielle des fromages (Serhane, 2008). La caractérisation du fromage constitue un point de départ d'une démarche dont l'objectif est la conservation et la protection de ses caractéristiques spécifiques (Casalta *et al.*, 2001), c'est aussi le moyen de mieux comprendre les mécanismes qui déterminent sa typicité et de fournir les références indispensables à la mise en place d'une appellation d'origine contrôlée (CHamba *et al.*, 1994).

En Algérie, les fromages traditionnels sont peu nombreux, non entièrement recensés et aussi peu étudiés ; environ dix types de fromages sont connus dans les différentes régions du pays (Zinedine saoudi, 2012). Parmi ces fromages, on rencontre bouhezza, Mechouna et Madeghissa, dans la région des Chaouia, Takammert et Aoules dans le Sud, Igounanes dans la région de la Kabylie. Malheureusement plusieurs d'entre ces fromages sont en voie de disparition, pour différentes raisons dont l'indisponibilité fourragère, l'exode rural et le changement des habitudes alimentaires. Nous ignorons le devenir de ces produits, mais il convient de faire tout ce qui est possible pour le connaître, maintenir leur existence et encourager leur fabrication. Ces fromages représentent un bien culturel avant d'être une ressource économique, qui doit être bien caractérisée et protégée.

Le fromage bouhezza est connu depuis longtemps dans la région des « Chaouia » car il est anciennement pratiqué dans certaines localités Aurassiennes (Nord, Est d'Algérie) plus précisément des villes d'Oum Elbouaghi, Batna, Khenchla et Tébessa (saoudi, 2012). C'est un fromage de fermier à égouttage spontané et à pâte épaisse, non moulée, il est fabriqué à partir de laits de chèvre, de brebis, de vache, ou de mélange. Son procédé de fabrication particulier est caractérisé par

l'utilisation d'une peau d'animaux « Chekoua », il est basé sur l'ajoute successif de lben dans la « Chekoua » pendant quelques semaines, puis ajout de lait cru à la fin de l'affinage.

En présent l'utilisation de la Chekoua est remplacée par des méthodes modernes en utilisant des citernes en inox avec moteur qui sert à agiter le lait fermenté, en vue d'augmenter le rendement.

Ce travail a pour objectif principal d'apporter une contribution à la caractérisation d'un fromage Bouhezza, ou point de vue microbiologique et physico-chimique.

Synthèse bibliographique

I-Généralités sur les fromages

I-1-Historique

La dénomination fromage est réservée aux produits fermentés ou non, obtenus à partir de matières premières d'origines exclusivement laitière, utilisées seules ou en mélanges, coagulés totalement ou en partie, avant égouttage ou après diminution partielle de la partie aqueuse. Le produit doit contenir ou moins 23grammes de matière sèche dans 100g de fromage (**Gillis, 2006**).

D'après **Fox et Mc Sweeney (2004)**, la découverte du fromage fut probablement le fait du hasard, on n'en connaît pas l'origine précise, mais on sait grâce à des découvertes Archéologiques que le fromage est fabriqué depuis les origines de l'élevage, il y a environ huit mille ans.

L'homme a découvert que le lait qu'il laissait coagulait et qu'une fois séparé de son sérum, le coagulum devenait une masse compacte qui pouvait être sécher, et donc être conserver et être transportée. L'acidification spontanée à l'origine de la coagulation entraîne, du fait de sa lenteur, une remontée de la crème à la surface, le lait fermenté, le petit lait aigre, et le beurre furent sans doute les premiers produits laitiers.

I-2-Intérêt nutritionnel et composition du fromage

Le fromage est un excellent aliment pour l'Homme : sa valeur nutritive est élevée (protéines, calcium, phosphore...), ses qualités organoleptiques sont très variés (**Renner,1987**) précise que le fromage est non seulement riche en éléments nutritifs mais aussi important pour certains malades comme les personnes souffrant de malabsorption du lactose et les diabétiques en raison de sa faible teneur en lactose (**Renner,1987**).

Les principaux composants sont :

❖ **Les protéines** : Selon leur mode de fabrication, les fromages contiennent de 10 à 30% de Protéines.

- ❖ **Les vitamines :** D'après **Renner (1987)**, la concentration en vitamines liposolubles dans le fromage dépend de sa teneur en lipides. Cette teneur en vitamines liposolubles (A.D.E). peut varier de 0% dans certains fromages frais à 70% dans certains fromages frais dans les produits enrichis en crème (**ECK,1987**).
- ❖ **Les lipides :** Les lipides conditionnent l'onctuosité de la pâte du fromage teneur. Au cours de la maturation, ce produit sous l'influence de lipases microbiennes subit une lipolyse qui aboutit à la formation d'acides gras libres.
- ❖ **Sels et minéraux :** La composition minérale du fromage dépend des conditions de fabrication. Les deux éléments les plus importants sont le calcium et le phosphore.

I-3- Classification des fromages

Sans qu'aucune liste définitive ne puisse être établie, de nombreuses épreuves de Classification des variétés de fromages ont été faites, elles sont basées sur différents critères : texture, la méthode de coagulation, indices d'affinage et/ou les procédés de fabrication.

La norme **FAO/OMS (1990)** donne la classification des fromages en fonction de leur teneur en eau, de leur teneur en matière grasse et des principales caractéristiques d'affinage.

La diversité des modes de fabrication des fromages et la variété des années produites obtenus, on conduit les spécialistes à des classifications usuelles. Selon **Pernodet(1988)**, les fromages sont répartis en ces grandes familles :

I-3-1- Fromages frais à pâte fraîche

Ce sont des fromages très humides (car ils sont peut égouttés), ils sont consommés sans être affinés, additionnés habituellement de sel, d'arômes, ou de sucre, herbe.

I-3-2-Fromages à double présentation

Ces fromages sont une transition entre les produits frais du point de vue de la technologique et de la composition physico-chimique ils sont des produits à pâtes molles à croûte

fleurie ou lavée. Leur croûte est le support de cultures fongiques ou bactériennes. Exemple : Le Saint florentin.

I-3-3-Fromage à pâtes persillées

Ce sont des fromages dont la pâte est sillonnée de l'intérieur, elle est verdâtres ou bleuâtres, constituées par les filaments mycéliens de la moisissure *Penicillium glaucum*, le plus connue est le Roquefort.

I-3-4-Fromage à pâte molles

C'est le produit d'un caillé mixte. Il présente une pâte molle presque fondante, conséquente à la protéolyse pendant l'affinage. Cette pâte est revêtue de moisissures blanches de *Penicillium candidum*. Exemple : Le camembert

I-3-5- Fromage à pâte pressées

Ce sont des fromages dont la pâte subit un pressage mécanique, leur lente maturation leur donne une saveur subtile. Exemple : le cantal, le cheddar.

I-3-6-Fromage à pâte pressée et cuite

Ce sont des fromages de gros format, ayant subi un traitement thermique. Caractérisés par la présence d'ouvertures conséquentes au développement des bactéries propioniques. Exemple : le gruyère, l'emmental.

II- fabrication du fromage

II-1-Matière première

II-1-1-le lait

Le lait est le produit intégral de la traite totale ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (**Bourgeois et L'arpent 1996**).

Le lait est, de par sa composition, un aliment de choix. Il contient des graisses, du lactose, protéines, sels, minéraux et des vitamines sa teneur en eau est de 87% et son pH est de 6,7.

Lorsque le lait est collecté dans de bonnes conditions d'hygiène, il ne contient qu'une quantité minimale de microorganismes appelée « la flore originelle ». Par contre lorsque cette condition n'est pas respectée, le lait est contaminé par beaucoup plus de microorganismes appelés « flore de contamination ». Cette dernière est composée de coliformes, entérocoques...etc. Elles sont issues des fèces et téguments de la femelle laitière, du sol et de l'air qui l'entoure, ou bien des mains du manipulateur lors de la traite (**Paccalin et al., 1986 ; Guiraud, 2003**). La flore de lait cru est abondante et susceptible d'évoluer rapidement et entraîne une modification de sa texture et de son goût.

Le meilleur moyen de conserver le lait pour une plus longue durée est sa transformation en ses dérivés tels que les fromages.

II-2-Etapes de fabrication du fromage

II-2-1-La coagulation

La coagulation du lait qui correspond à des modifications physicochimiques des micelles de caséines, entraînent la formation d'un réseau protéique tridimensionnelle appelé coagulum ou gel. La coagulation peut être réalisée soit :

Coagulation par acidification

L'acidification du lait peut être obtenue, par les produits de fermentation des bactéries acidifiants ou par des composés chimiques d'action acidifiante direct (généralement par acide lactique ou acide chlorhydrique) (**Fox et al., 2000**).

La diminution concomitante du pH a pour effet de faire régresser l'ionisation des fonctions acides des caséines, induisant le déplacement progressif du calcium et du phosphore inorganique de la micelle vers la phase aqueuse. A pH 6,5- 5,2, il y a solubilisation du phosphate de calcium et à pH 5,2- 4,6 le complexe se dissocie, ce qui induit la désorganisation

Décalcification de la structure de la caséine et une réorganisation des sous unités micellaires (Brule et al., 1997).

✚ Coagulation enzymatique

Un grand nombre d'enzymes protéolytique d'origines animales, végétale (extrait de cardon, du figuier et d'artichaut) et microbienne (champignon ex : *Rhizomucormiehi*), ont la propriété de coaguler le lait, mais la plus utilisée est la présure constituer d'un mélange d'enzymes qui sont la chymosine et la pepsine.

II-2-2-Egouttage du caillé

Il assure une déshydratation partielle du gel, obtenu par séparation d'une partie du lactosérum. Il peut être spontané ou amélioré, selon le type de fromage fabriqué, ce processus est lié à des Facteurs directs qui correspondent à des traitements de types mécaniques et thermiques, et des facteurs indirects comme l'acidification ou coagulation enzymatique (Ramet, 1987).

II-2-3-Le salage

Peut être réalisé en surface ou dans la masse ; il modifie les caractères organoleptiques et les conditions d'égouttage du fromage.

Pour les fromages affinés, d'autres étapes viennent s'ajouter tel que la cuisson, le lavage de la croûte.

II-2-4-L'affinage

A l'exception des fromages frais, tous les autres types de fromage subissent une maturation biologique plus ou moins prononcée, destiné à développer leurs saveurs, tout en modifiant leurs aspects, leur texture et leur consistance.

Le caillé est constitué essentiellement de caséines et de la matière grasse, ils représentent le stock d'éléments fermentescibles du fromage concerné par les phénomènes de protéolyse et de lipolyse.

III-Les fromages traditionnels en Algérie

En Algérie, on retrouve une diversité du fromage artisanale, parmi ses fromages on cite **Igounane, Dben, Agougrou, Klila, Imadghasse, Takamert et Bouhezza**.

III-1- Définition du Bouhezza

Bouhezza est un fromage traditionnel Algérien, sa fabrication est anciennement pratiquée dans certaines localités Aurassiennes (Nord Est d'Algérie) plus précisément des villes de Oum el Bouagui, Khenchela et Batna (**Saoudi, 2012**).

Bouhezza est un fromage fermier à égouttage spontané et à pâte épicée ou non moulu, il est préparé à l'origine à partir de lait de chèvre et éventuellement de brebis (**Zaidi et al, 2002**). Mais actuellement, et selon l'élevage des familles, le lait de chèvre, de brebis et /ou de vache, mais peut être employés (**Saoudi, 2012**).

IV- Classification des micro-organismes du fromage

Les microorganismes occupent une place essentielle dans le domaine des produits laitiers et leur importance se situe à trois niveaux : L'élaboration, l'altération et l'hygiène des produits.

IV-1- Les micro-organismes utiles

Ils sont utiles dans le domaine de l'industrie laitière, de multiples microorganismes sont impliqués :

Les bactéries lactiques

Ce sont des Gram+ (coques ou bacilles), elles forment la flore dominante et tirent leur origine principale de la culture ajoutée en début de fabrication, les bactéries lactiques assure deux fonction essentielle : - abaisser le pH par la production d'acide lactique et contribuer au caractéristiques organoleptique du fromage au cours de la maturation.

Les bactéries propénoïques

Ce sont des bactéries Gram+, fermentant le lactate pour donner l'acide acétique et propénoïque, ainsi que le CO₂. Ils participent à la formation du goût et de l'ouverture des fromages à pâte pressée cuite.

✚ Autres bactéries

Il s'agit de microcoques, les staphylocoques non pathogènes (*S. equorum*, *S. xylosus*, *S. lentus*), les bactéries corynéformes (*Brevibacterium*, *Arthrobacter*, etc.) :

Ce sont des gram+, constituent la flore de surface des fromages affinés. Ils jouent un rôle essentiel dans la formation du goût des fromages, notamment des fromages à croûte lavée.

✚ Levures :

Les levures interviennent dans la désacidification en début d'affinage, permettant ainsi l'implantation ultérieure d'une flore acido-sensible.

✚ Moisissure : *Penicillium camemberti*, *Penicillium roqueforti*

Ils sont présents à la surface des fromages à pâte molle à croûte fleurie, les moisissures jouent un rôle déterminant dans la formation des caractéristiques sensorielles des fromages.

IV-2-Micro-organismes responsable d'altération

Du fait même de leur composition et des conditions de production, les produits laitiers peuvent être contaminés par des microorganismes qui, en se multipliant dans le milieu, provoquant la dégradation de leur constituant, ces dégradation peuvent être due à des bactéries, levure et moisissures et se traduisant par des défauts de goût, d'odeur, d'aspect et de texture (**J. Hermier et al, 1992**).

✚ Les coliformes :

Elles peuvent être responsables de gonflements précoces dans les fromages, qui est due principalement à la formation d'hydrogène très peu soluble dans le fromage. Lors de leur développement dans le fromage, les bactéries psychotropes (genre *Pseudomonas* principalement) peuvent produire des lipases et protéase extracellulaires. Ces enzymes provoquent des défauts de goût dans les fromages (**J. Hermier et al, 1992**).

Les bactéries butyriques, *Clostridium tyrobutyricum*,

Elles peuvent se développer dans les fromages à pâte pressée cuite et non cuite) et donner des défauts de goût et d'ouvertures par fermentation butyrique (**J. Hermier et al, 1992**).

✚ Levures et moisissures :

Elle se manifeste dans le fromage (peu dans le lait). Ainsi, *Mucor* est responsable de l'accident dit « poil de chat » principalement en fromage à pâte molle,

Il est noté que le regroupement des microorganismes en flore utile et flore d'altération est à nuancer en fonction des technologies considérées. Par exemple, le *Mucor* est utile en Tomme de Savoie, mais nuisible en camembert (**Bouvier Eric et Fabienne ,2005.**).

IV-3-Microorganismes potentiellement pathogènes :

La contamination du lait et des produits laitiers peut être aussi l'œuvre de germes dangereux pour la santé de consommateurs comme *Staphylococcus aureus* , *Salmonella*, *E. coli* et *Listeria monocytogenes* (**J. Hermier et al, 1992**).

Matériels et méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire de microbiologie de l'université de l'université d'Abderrahmane MIRA de Bejaia.

I- Objectifs des analyses

Les analyses réalisées dans cette étude ont pour but la recherche des germes responsables de la fermentation(la flore lactique dont les lactobacilles et les streptocoques), les germes d'altération indicateurs des conditions de préparation et de conservation du produit à savoir les streptocoques et les coliformes et a la fin les germes présumés pathogènes et nuisibles à la conservation de la denrée comme les staphylocoques .

Ces analyses ont aussi eu pour but de rechercher la teneur en matière sèche, le pH et L'acidité titrable qui permettent d'évaluer la quantité d'acide lactique contenue dans le fromage et son degré de fermentation.

II- Analyses microbiologiques

Les techniques utilisées sont réalisées selon les recommandations du Journal Officiel de la République Algérienne (JORA ,1998)

II-1- Origine de l'échantillon

Les deux échantillons utilisés dans cette étude, sont collectés durant le mois de Mars 2015 chez deux familles différentes qui fabrique le fromage Bouhezza.Ces familles habitent dans la région Ain Fekroune de la wilaya d'Oum El Bouaghi(**Figure 1**).



Figure1 : La région de fabrication du fromage Algérien Bouhezza « Ain fakroun » sur la carte géographique.

II-2- Echantillonnage

Nous avons collecté deux échantillons de fromage Bouhezza d'une quantité de 200g pour chaque échantillon après 20 jours de fabrication, selon des méthodes traditionnelles.

II-3- Préparation de la solution mère

Prendre 10 g de fromage dans des conditions aseptique devant Le bec benzin et la mettre dans 90 ml d'eau physiologique stérile et homogénéiser la solution.

II-4- Préparation des dilutions

Avant d'ensemencer les milieux, on effectue des dilutions en cascades de la solution de 10^{-1} jusqu'à 10^{-8} (Figure 2).

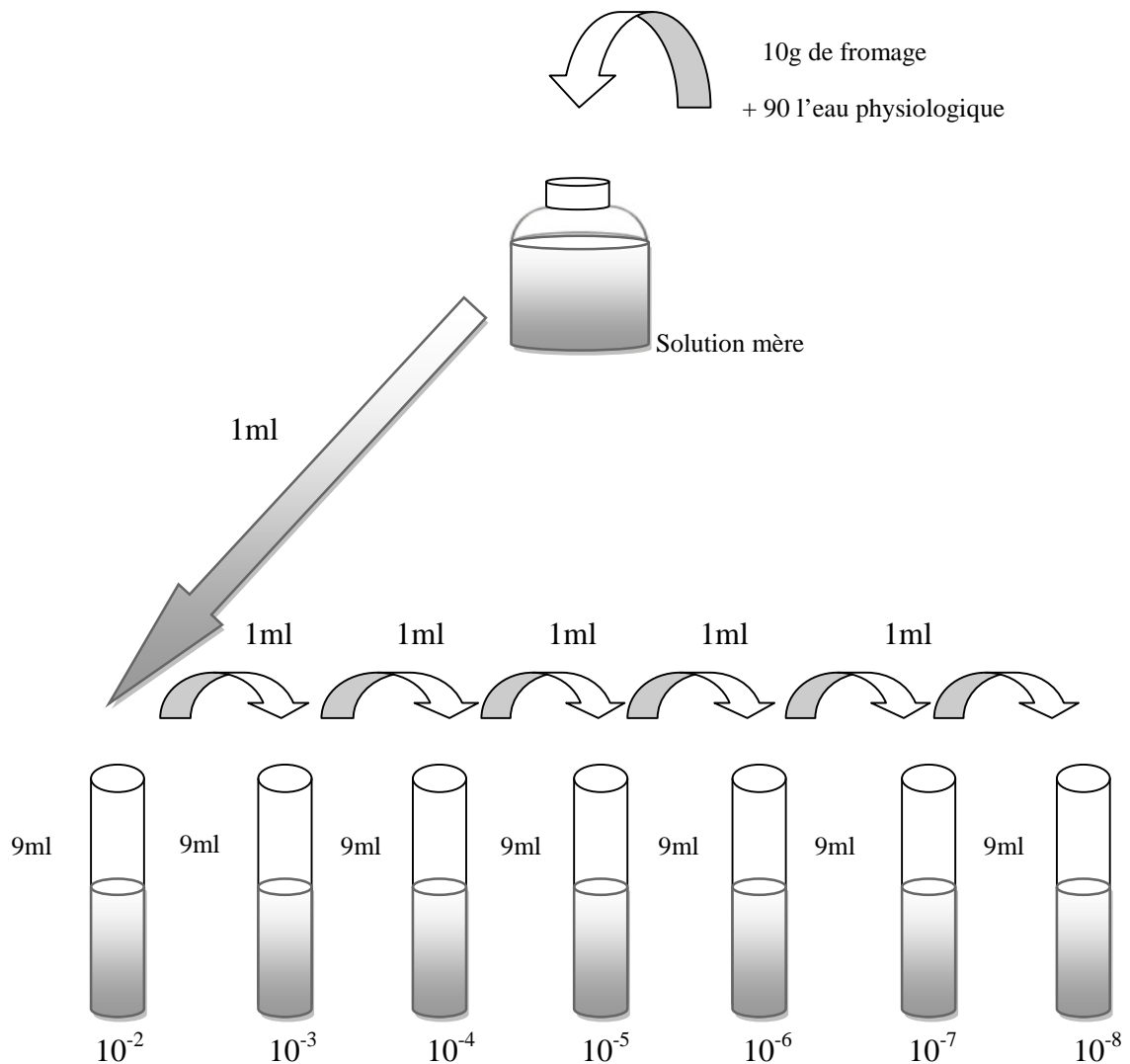


Figure2 : préparation des dilutions à partir de la solution mère.

II-5- Dénombrements

II-5-1- Dénombrement de la Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM)

La Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM) est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant une Colonie) présentes dans un produit.

- **Mode opératoire**

On met un 1 ml des dilutions les plus dilués (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}) dans une boîte de Pétri puis on ajoute le milieu PCA en surfusion et on homogénéise (ensemencement en masse). Pour chaque dilution on utilise trois boîtes.

L'incubation s'effectue à 37°C / 24 à 48 h. Après incubation il y aura formation de colonies et on suppose que chaque colonie soit le résultat du développement d'une bactérie, on parle alors d'unité formant colonie (UFC).

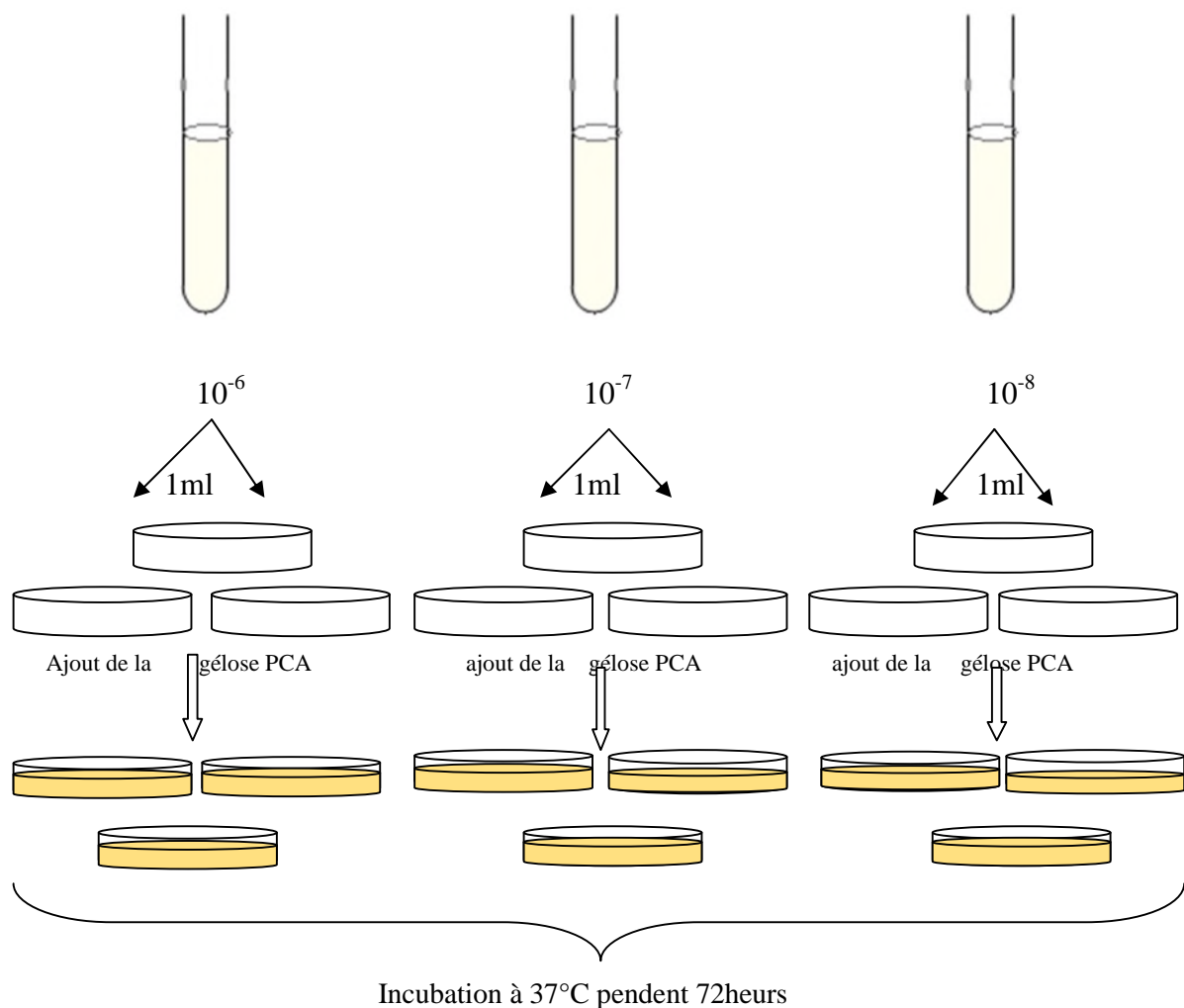


Figure 3 : dénombrement de la flore totale aérobie mésophile.

II-5-2- Dénombrement des bactéries lactiques

- **Dénombrement des lactobacilles :**

Le milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des lactobacilles est la gélose de(MRS).

On met un 1 ml des dilutions les plus fortes (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}) dans une boîte de Pétri puis on ajoute le milieu MRS en surfusion et on homogénéise (ensemencement en masse). Pour chaque dilution on utilise trois boîtes

L'incubation s'effectue à 30°C en anaérobiose pendant 24 à 48 heures.

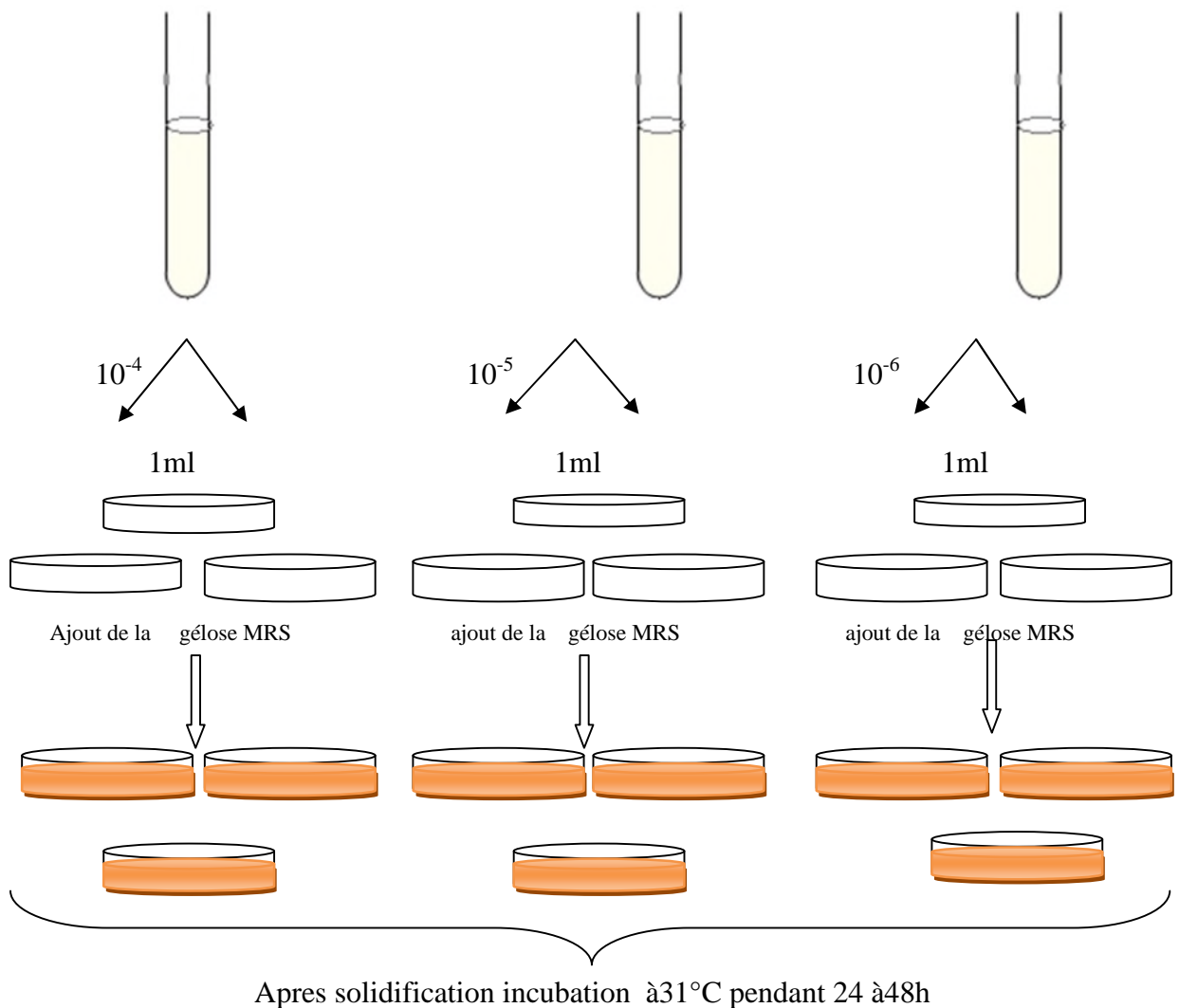


Figure4 : Dénombrement des lactobacilles

- **Dénombrement des streptocoques lactiques**

La culture se fait sur le milieu M17 de 48 à 72 heures d'incubation permettent de favoriser le développement des streptocoques lactiques (lactocoques) à 30°C et le mode opératoire et le même que celui la mise en culture des lactobacilles sauf que on utilise le milieu M17.

II-5-3- Dénombrement des coliformes totaux

Les coliformes totaux sont des indicateurs de contamination d'origine fécale et d'une mauvaise qualité hygiénique du produit. Un bon produit et bien protégé ne devrait pas contenir de coliformes, mais leur présence ne constitue pas un risque immédiat pour la santé.

Mode opératoire

Les coliformes appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. L'intérêt de leur dénombrement est de déterminer une éventuelle contamination fécale du produit.

Ces germes sont mis en évidence sur un milieu liquide de BCPL contenant une cloche de Durham .On ensemence une série de 03 tubes BCPL avec 1ml des dilutions 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} . Et l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

Le dénombrement s'effectue selon la méthode statistique du nombre le plus probable NPP de Mac Grady.

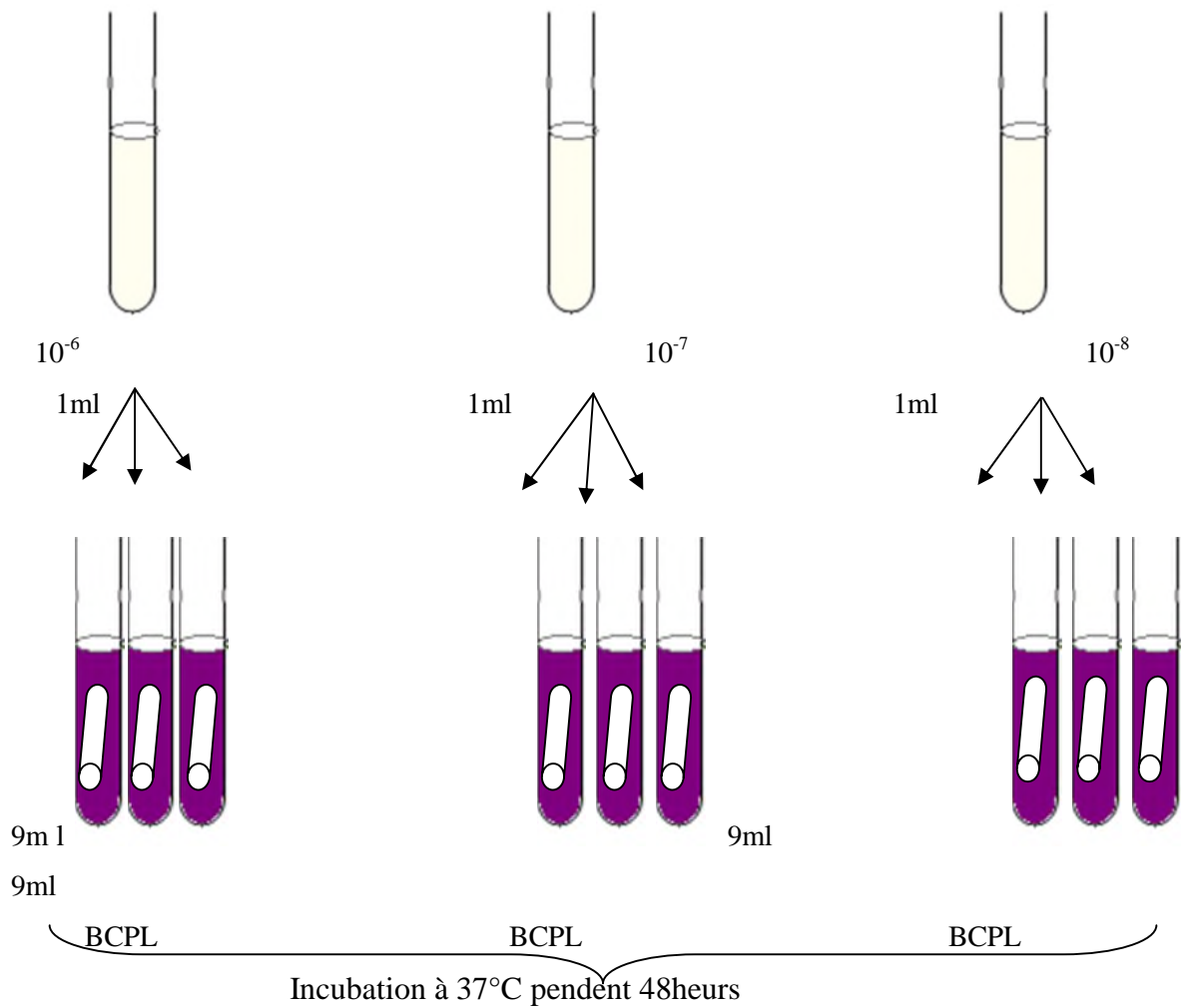


Figure 5 : Dénombrement des coliformes totaux

II-5-4-La mise en évidence d'*Echérichia.coli*

La présence d'*E. coli* dans les produits laitiers est le signe le plus certain d'une contamination fécale.

- **Mode opératoire**

A partir des tubes positifs de milieu BCPL, On fait un repiquage sur milieu l'eau peptonée exempte d'indole et incubation se fait à 44°C pendant 48 heures.

Sur les tubes d'eau péptonée, l'apparition d'un anneau rouge vif, après addition de réactif de Kovacs témoigne de la production d'indole et ainsi la présence d'*E.coli*.

II-5-5- Dénombrement des Streptocoques totaux

- **Mode opératoire**

On ensemence trois tubes du milieu Rothe par 1ml de chacune des dilutions suivantes (10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6}). L'incubation s'effectue à 37°C pendant 48 h. Le tube est positif s'il y a formation de trouble blanchâtre. Les résultats sont exprimés selon la méthode de NPP.(figure 6)

II-5-6- Recherche des streptocoques fécaux

La présence de streptocoques fécaux dans un produit alimentaire est le signe d'une contamination fécale.

- **Mode opératoire**

Tous les tubes présentant un trouble sur le milieu de Roth sont repiqué à l'anse bouclée dans les tubes de milieu de Eva-litesky .l'incubation se fait à 37°pendant 24h heures. La présence des streptocoques fécaux lorsque le milieu De confirmation a un trouble avec dépôt violet. **(Figure 7).**

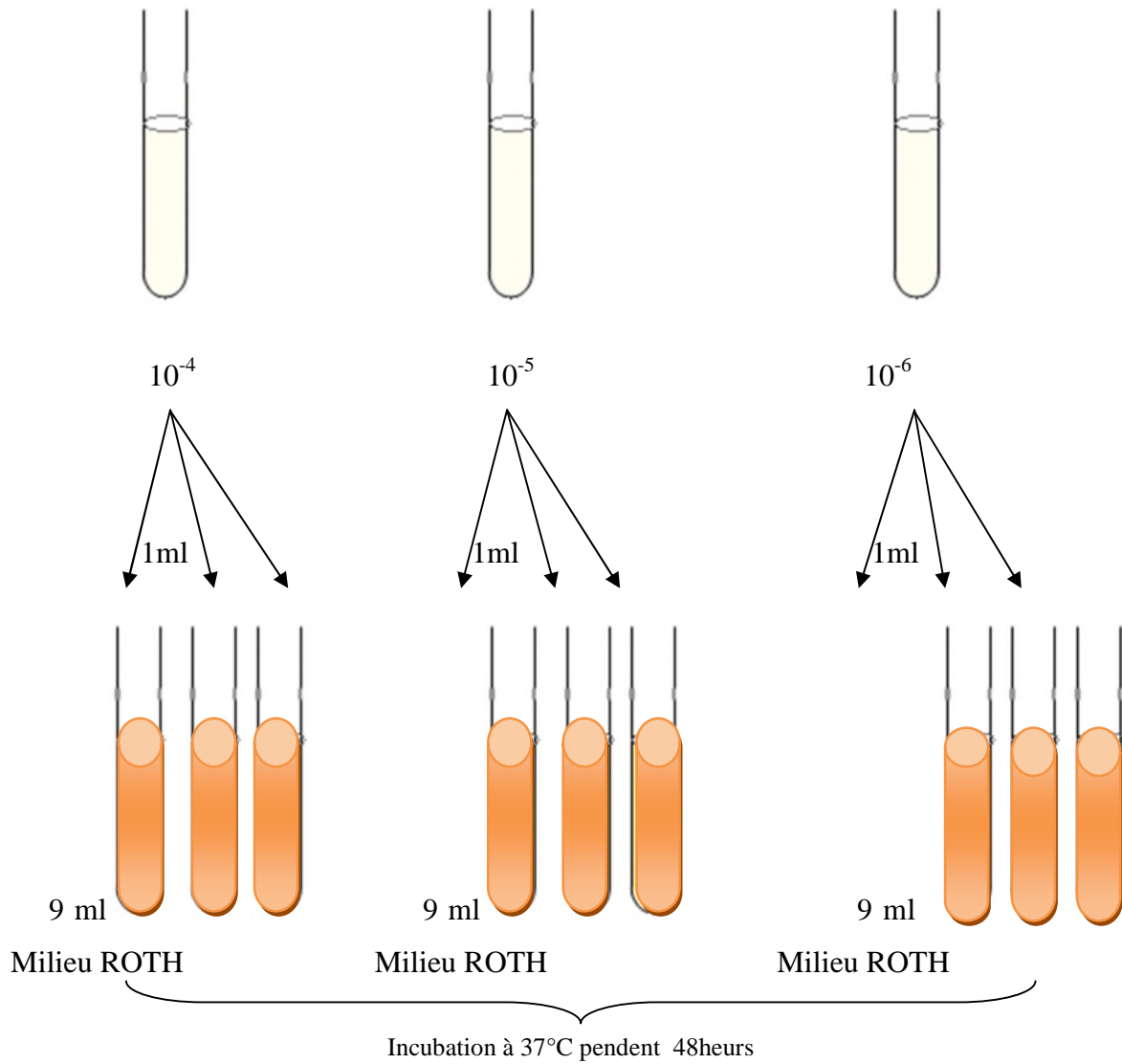


Figure6 : dénombrement des streptocoques totaux:

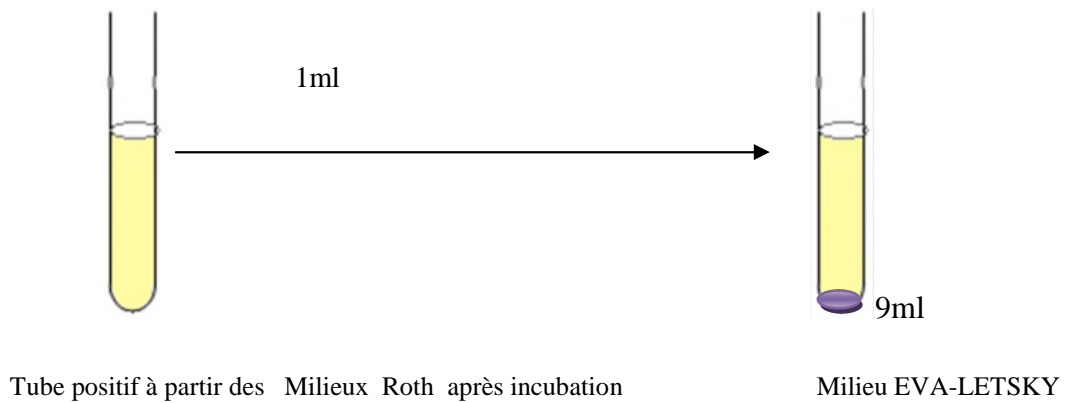


Figure7 : Recherche des streptocoques fécaux

II-5-6- Dénombrement des Staphylocoques

- Mode opératoire :

On met un 0,4 ml des dilutions les moins diluée (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}) dans une boîte de Pétri puis on ajoute le milieu Chapman (15 ml) en surfusion et on homogénéise (ensemencement en masse). Pour chaque dilution on prépare trois boîtes. On incube à 37°C pendant 48h.

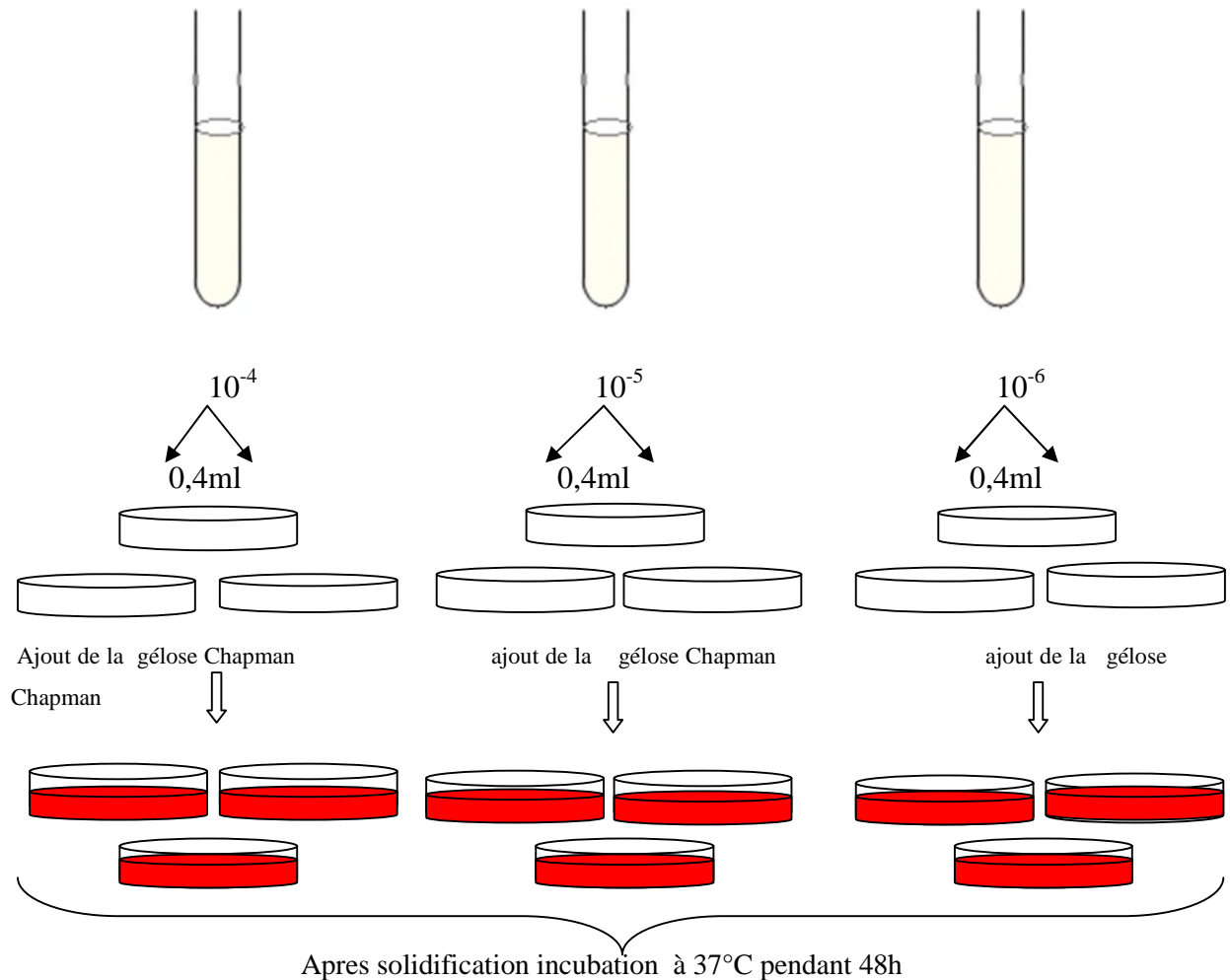


Figure 8 : Dénombrement des staphylocoques

II-5-6- Recherche des *staphylococcus aureus*

On prélève à partir des colonies jaune sur le milieu Chapman et on ensemence sur milieu Baird Parker (additionné du jaune d'œuf et de tellurite de potassium) en surface. L'incubation s'effectue à 37°C pendant 48h. (Figure 9).

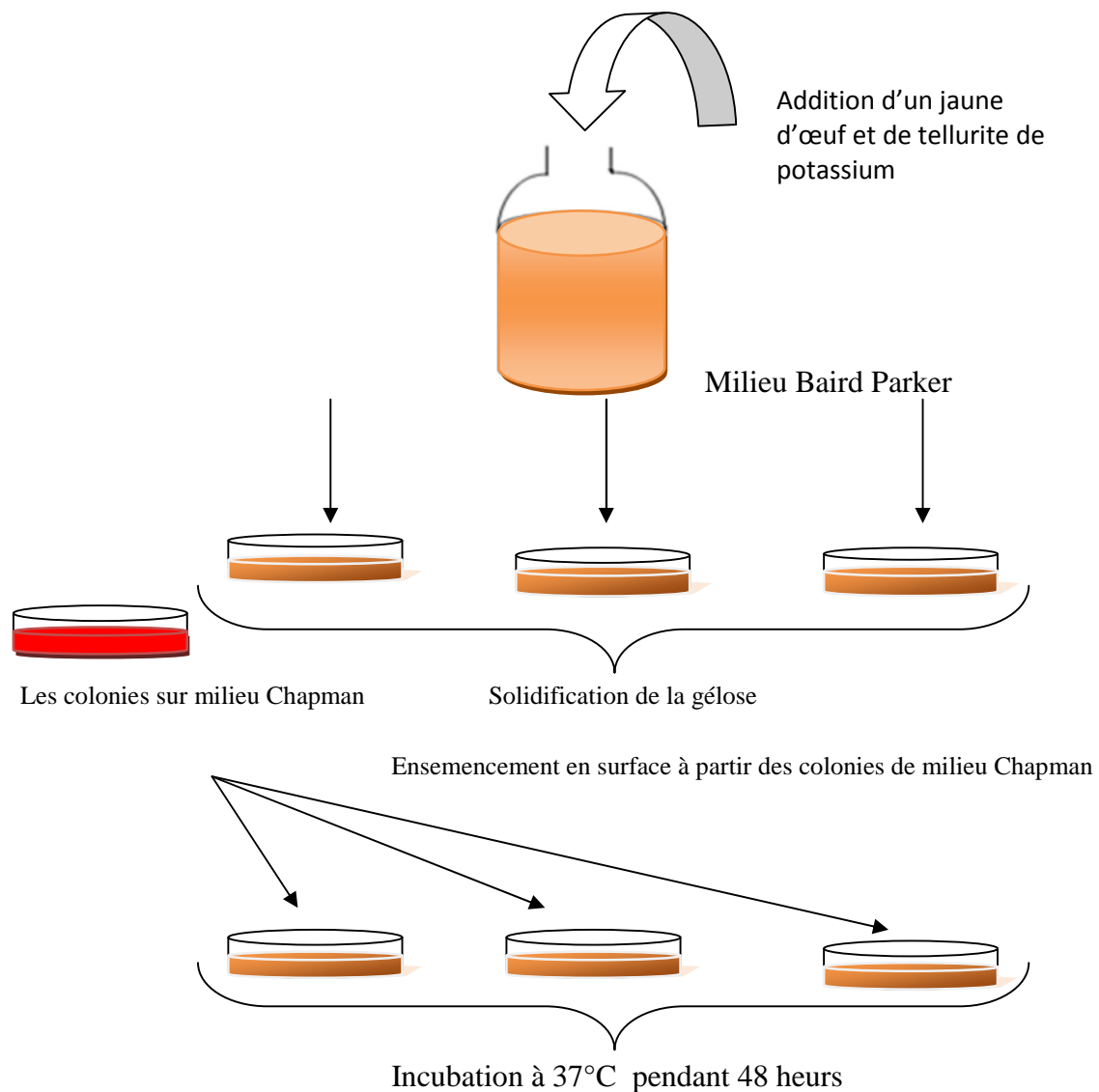


Figure9: recherche des *staphylococcus aureus*

II-4-6- Levures et moisissures

- **Principe**

Cette microflore est recherchée sur la gélose OGA contenant un antibiotique (l'oxytétracycline) qui inhibe le développement bactérien.

- **Mode opératoire**

On utilise le milieu OGA (Agar à l'oxytétracycline), l'ensemencement se fait en surface par étalement de 0,4ml de chaque dilution à la surface de la boîte de pétrie contenant l'OGA .On utilise les trois dilutions (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}) .On utilise trois boîtes pour chaque dilution. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 48 heures.

II-5-Analyses physico-chimiques

Il s'agit principalement de déterminer le pH, le degré DORNIC et la teneur en matière sèche des échantillons de fromage traditionnelle fabriqué en Algérie « Bouhezza »

II-5-1- Le pH

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH-mètre .Avant d'entreprendre les mesures, l'électrode du pH mètre doit être rincée à l'eau distillée et séchée avec du papier absorbant. L'opération débute par l'étalonnage de l'appareil à l'aide de deux solutions de pH connues (4,00 et 7,00). Ensuite,le pH est mesuré par immersion du bout de l'électrode dans le lait caillé. La valeur du pH s'affiche immédiatement sur l'écran.

Avant d'entreprendre une autre mesure, l'électrode doit être à nouveau nettoyée puis rincée comme précédemment (**Neville et Jansen ,1995**).

II-5-2- Acidité Dornic

L'acidité titrable est exprimée en degré Dornic par un gramme de fromage. Le principe consiste à déterminer l'acidité de l'échantillon en le titrant avec de l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine jusqu'au virage du blanc en rose

- **Mode opératoire :**

A 10 ml de solution mère préparée prélevé dans un bécher, sont ajoutées 2 gouttes de phénolphtaléine. Le titrage s'effectue avec de l'hydroxyde de sodium (NaOH) 1/9N ,cette solution est dite solution Dornic, dont 1 ml correspond a 0,01 gramme d'acide lactique .(AFNOR ,1980).

- **Expression des résultats :**

L'acidité est exprimée en degré Dornic, c'est-à-dire en décigramme d'acide lactique par litre d'échantillon.

$$D = V_i .10$$

V_i : est le volume en millilitre de la solution d'hydroxyde de sodium nécessaire à neutraliser l'échantillon.

II-5-3-Détermination de la matière sèche dans le fromage :

La matière sèche de fromage est la masse exprimée en pourcentage pondéral restant après dessiccation du fromage. Elle est exprimée par la masse en gramme de la matière sèche du fromage entier.

- **Principe :**

Le principe repose sur la dessiccation de la prise d'essai à 105 °C et pesé dans une étuve jusqu'à une masse pratiquement constante (5 à 6 heures). (AFNOR, 1980)

- **Expression des résultats :**

$$MS\% = \frac{P_i}{P_i - P_f} \cdot 100$$

P_i : poids initiale de prise d'essai avant introduction dans l'étuve.

P_f : poids après introduction dans l'étuve.

Résultats et discussion

I-Enquête réalisée sur le fromage Bouhezza

I-1-Les méthodes de la fabrication du fromage bouhezza

D'après une enquête réalisée sur le fromage Bouhezza on a trouvé qu'il existe trois méthodes de préparation du Bouhezza qui dépend du procédé utilisé pour la préparation de ce fromage. La première méthode elle utilise la « Chekoua » qui est sous forme d'un sac fabriqué à base du cuir de chèvre, c'est la méthode la plus ancienne, la fabrication du fromage dure 70 jours avec ajout successive du lait qui se transforme en caillé, le fromage obtenue a un gout plus riche et de bon texture. La deuxième méthode elle utilise une citerne en bois qui sert à barater le lait caillé, le fromage obtenue est aussi riche car le bois ajoute au fromage un gout spéciale et une bonne qualité organoleptiques.

Et pour la troisième, on utilise des citernes en inox avec moteur pour barater le lait caillé. Actuellement cette dernière, c'est la méthode la plus utilisé pour la préparation du Bouhezza.

I-2-Fabrication du Bouhezza

Après la trait, le lait cru est mis dans un récipient et laisser fermenté, cette étape dure qui dure de 2 à 3jours tous dépend de la chaleur de milieu, de la température ambiante.

Après la fermentation, on prend le lait fermenté, on le verse dans la citerne qui sert à barater le lait fermenté, cette étape dure quelques heures, après le barattage vien l'étape de l'écémage, on récupère la crème ou bien le beurre qui est riche en matière grasse complet, et on laisse le liquide à l'intérieure se coagule, c'est l'étape de la coagulation, on le laisse le leben se coagulé sachant que la période de coagulation dépend de climat et de la température du ambiante, en hiver la coagulation peut aller jusqu'à 15jours cependant en été elle dure de 3 à 4jours. Le coagulum se sépare du lactosérum par floculation du caillé, on récupère la matière qui est coagulé le fromage et le lactosérum on le jet ; puis on mit le fromage dans sac en coton qui sert à égoutter et essorer le fromage, cette étape dure 1jours et demie maximum.

Après l'égouttage on récupère le fromage on le mit dans un récipient, on ajoute une petite quantité du lait cru pour réduire le gout acide puis on ajoute une quantité du sel, sachant que pour 80Ldu Lait, on obtienne 10kg du Bouhezza, dont on ajoute 50g du sel (2

cuillères à soupe). Si on veut avoir un Bouhezza épicé, on ajoute des épices qui sont l'ailles, la harissa (250g pour 10Kg du fromage), poivron rouge, poivron noire.

Il existe deux types de Bouhezza :

Bouhezza au lait entier, il est de bonnes qualités organoleptiques, dans ce cas on obtient du Leben plus le fromage qui est très riche en matières grasse.

Bouhezza au lait écrémé, il est moins riche en matières grasse par rapporte ou premiers.

II-Contrôle de la qualité microbiologique

Les résultats sont exprimés en termes de présence ou d'absence dans les cas où nous n'avons pas pu procéder au dénombrement, en termes de nombre de germes par unité de produit (par g) dans les cas où la numération a été effectuée (**Tableau I**)

M

Tableau I : Résultats des analyses microbiologiques de fromage Bouhezza

Type de la flore	Bute d'analyse	Moyenne en UFC/g Ech 1(fromage blanc)	Moyenne en UFC/g Ech 2(fromage épicé)
FATM	Dénombrement	1,96 .10 ⁹	8,93 .10 ¹⁰
Coliformes totaux	Dénombrement	1,31 .10 ⁸	1,22 .10 ⁸
<i>E.coli</i>	Recherche	Absence	Absence
Streptocoques totaux	dénombrement	4 .10 ⁴	3 .10 ⁵
Staphylocoques	Dénombrement	2 .10 ⁷	2,05 .10 ⁸
<i>Staphylococcus aureus</i>	Recherche	Présence	présence
Streptocoques lactiques	Dénombrement	9,2. 10 ⁹	9,5. 10 ⁹
Lactobacilles	Dénombrement	3.5. 10 ⁸	2,5. 10 ⁸
Levures et moisissures	Dénombrement	3,64. 10 ⁹	1,08. 10 ¹¹

II-1-Dénombrement de la Flore totale aérobique mésophile (FTAM)

Le dénombrement de la flore totale du fromage a révélé une charge moyenne de $1,96.10^9$ UFC/g pour le fromage blanc non épicé(**Ech1**) et $8,910^{10}$ UFC/g pour le fromage épicé (**Ech2**).

D'après *Saoudi (2012)*, la charge microbienne totale de *Bouhezza* variait entre $8,4.10^7$ UFC/g et $7,5.10^8$ UFC/g.

Ces résultats sont proche de nos résultats concernant le fromage blanc non épicé cependant le fromage épicé présente une flore plus importante, cette flore élevé peut être expliqué par :

- La différence de charge dans les deux fromages épicés ou non, peut venir de la charge initiale du lait utilisé pour fabriquer le fromage.

-Le lait, les épices et l'aïlle ajoutés peuvent ramener une charge microbienne supplémentaire ou fromage Bouhezza.

II-2-Dénombrement de la flore lactique

II-2-1-Les lactobacilles

Les résultats obtenus ont montrés que le premier échantillon présente une valeur de $3.5. 10^8$ UFC/g alors que le deuxième contienne $2,5. 10^8$ UFC/g.

Ces résultats sont proches de ceux obtenue par *Saoudi (2012)* qui ont signalé une charge microbienne totale de Bouhezza artisanale variait entre $8,4.10^7$ UFC/g et $7,5.10^8$ UFC/g ainsi que dans le fromage de darfiyeh, fromage Libané (à base de lait crue), le nombre de lactobacilles est d'environ 10^7 UFC/g (*Serhane et al., 2009*)qui sont aussi proche de nos résultats.

Les lactobacilles constituent la majorité des bactéries lactiques indigènes dans le fromage (*Mannu et al., 2000*) ceux qui explique leurs taux élevés dans nos résultats.

II-2-2-Les streptocoques lactiques

Des niveaux plus élevés de population en streptocoques lactiques sont observés dans les deux échantillons, qui sont aux nombres de $9,2. 10^9$ UFC/g pour l'**Ech1** et de $9,5. 10^9$ UFC/g pour l'**Ech2** épicé.

D'après **Saoudi (2012)**, Bouhezza traditionnelle est caractérisé par des charges en streptocoques lactiques entre 10^6 UFC/g et 10^7 UFC/g qui sont proche de nos résultats.

Le taux élevé des lactobacilles et des streptocoques dans le fromage de Bouhezza est bénéfique pour ce produit, ils sont les constituants majeurs de la microflore du fromage.

Ces résultats montrent qu'il n'y a pas une grande différence entre la charge des lactobacilles et les streptocoques lactiques, et ces charges élevés dans les deux flores semblent être normal car les bactéries lactiques dont les lactobacilles et streptocoques lactiques sont des constituants majeurs de la microflore du fromage et leurs présences est bénéfiques.

II-3-Les streptocoques totaux

Les résultats obtenus dans l'**Ech2** épicé présente une charge élevée qui est de 3.10^5 UFC/g et $0,4.10^5$ UFC/g pour l'**Ech1**. La présence de streptocoques totaux dans les deux échantillons peut être expliquée par une mauvaise condition d'hygiène, de l'exploitation, du matérielles utilisées, de l'eau de lavage, des mains de manipulateurs, de la flore de l'animale ou de l'environnement des fermes...

II-4-Les streptocoques fécaux

Au bout de l'incubation 24h sur milieu Eva-litsky, aucun dépôt violacé n'a été détecté dans les deux échantillons, ca prouve l'absence de streptocoques fécaux, qui un indice de bon qualité hygiénique.

II-5-les coliformes totaux

Sachant qu'aucune précision concernant le type de lait utilisé (chauffé ou cru) pour la fabrication du fromage frais n'est mentionné dans le JORA. On obtien une charge de $1,3.10^8$ UFC/g pour l'**Ech1** fromage blanc et $1,22.10^8$ UFC/g pour l'**Ech2** épicé.

Ces résultats sont très élevés par rapport ou normes algériennes qui ne doivent pas dépasser 10 UFC/g (**J.O.R.A 1998**) (**tableau II et annexe I**)

Saoudi (2012) a trouvé, dans Bouhezza traditionnelle, une variation de cette flore entre 10^3 UFC/g et 10^6 UFC/g, ces résultats sont aussi élevés par rapport à la norme.

Ces résultats élevés dans les deux échantillons peuvent être dues à de mauvaises conditions d'hygiène ou cour de fabrication du fromage, l'eau utilisée, flore de manipulateur, matérielle non stérile, environnement de la ferme.

II-6- Recherche d'*E.coli*

La recherche de *E .coli* par le test de Kovacs révèle l'absence totale de germe dans les deux échantillons, qui est un indice de bonne qualité hygiénique.

II-7- Les Staphylocoques

Au bout de 24h d'incubation sur gélose Chapman, les colonies de couleur jaune et de 1 à 2 mm de diamètre sont apparues dans les deux échantillons.

Le dénombrement des staphylocoques dans les échantillons de fromage a révélé une charge de 2.10^8 UFC/g dans le premier échantillon et 2.10^7 UFC/g dans l'Ech2 fromage épice.

- La quantité des germes dans le fromage épice dépasse celle du fromage blanc, cela peut être dû à l'effet des épices. Le taux de germes élevés pour les deux échantillons peut être expliqué par, Une contamination du lait pendant la traite avec la flore de l'animale ou de manipulateur, matériel souillé, manque de condition d'hygiène dans la ferme, chez le manipulateurs ou dans l'eau de lavage.

II-8- Les *Staphylococcus aureus*

Au bout de 24h d'incubation à 37 °C réalisé sur milieu gélosé de Baird Parker, les colonies typiquement noires sont apparues dans les deux échantillons, ce témoigne de la présence de *Staphylococcus aureus*. Cependant l'aspect des colonies qu'on a obtenu dans nos échantillons ne nous a pas permis de les dénombrer.

La présence de ses bactéries dans les deux l'échantillon peut être expliqué par une flore de contamination qui s'est introduite dans le lait, cette flore peut être la flore de l'animale, ou bien elle provient de manipulateur qui n'a pas respecter les conditions d'hygiène.

II-8- Dénombrement des levures et moisissures

D'après nos résultats, les colonies obtenues sur milieu OGA, ne semble pas être des colonies de levures ou de moisissure parce que leur aspect ne correspond pas à celui de ces deux microorganismes.

III- Qualité physico-chimique

Les résultats relatifs aux caractéristiques physico-chimiques des deux Echantillons, le fromage blanc et le fromage épicé, ayant fait l'objet de la présente étude. La moyenne des deux répétitions de chaque échantillon est portée sur le tableau III.

Tableau III :Résultats des analyses physico-chimiques des deux échantillons fromage Bouhezza

Paramètres physico-chimiques	Moyenne Ech 1	Moyenne Ech 2
Acidité Dornic °D	80	80
pH	4.31	4.15
Teneur en matière sèche %	25,9	24,9

II-1- pH et l'acidité titrable

D'après les résultats obtenus, le fromage est caractérisé par un Ph bas (Ph= 4.31) est une acidité élevé respectivement (80D°) pour le premier échantillon et (4,15 et 80D°) pour l'Ech2. Cette acidité est due à la présence de la flore lactique dans le lait, engendrait par le taux élevé des bactéries lactiques qui ont acidifié le fromage.

II-2- Teneur en matière sèche

Des valeurs en matières sèche entrent 25,9% pour l'Ech2 et 24,9% pour l'Ech1 sont enregistrés.

Ces résultats sont inférieurs à ceux apportés par *Saoudi (2012)* qui a enregistré des valeurs de 29%, cette différence, serait due à la variation en extrait sec (protéine, matière grâce) des matières premières (le lait) qui sont utilisées pour la fabrication du fromage.

Il pourrait être dû aussi ou conditions de fabrication du fromage essentiellement la vitesse de l'égouttage,

De plus La quantité de matière sèche obtenue, varie en fonction de la période de fabrication.

Conclusion

L'objectif de ce travail vise la caractérisation microbiologique et physico-chimique de Bouhezza, fromage traditionnel Algérien.

Nous avons collectés deux échantillons du fromage, l'Ech1 un fromage blanc non épicé, et l'Ech2 un fromage épicé. Un dénombrement des principaux groupes microbiens montre une flore d'altération abondante dans les deux échantillons de Bouhezza.

Ces contaminations peuvent provenir lors de la traite en raison de manque de d'hygiène, de la flore de l'animale, d'un matériel souillé ou de l'environnement.

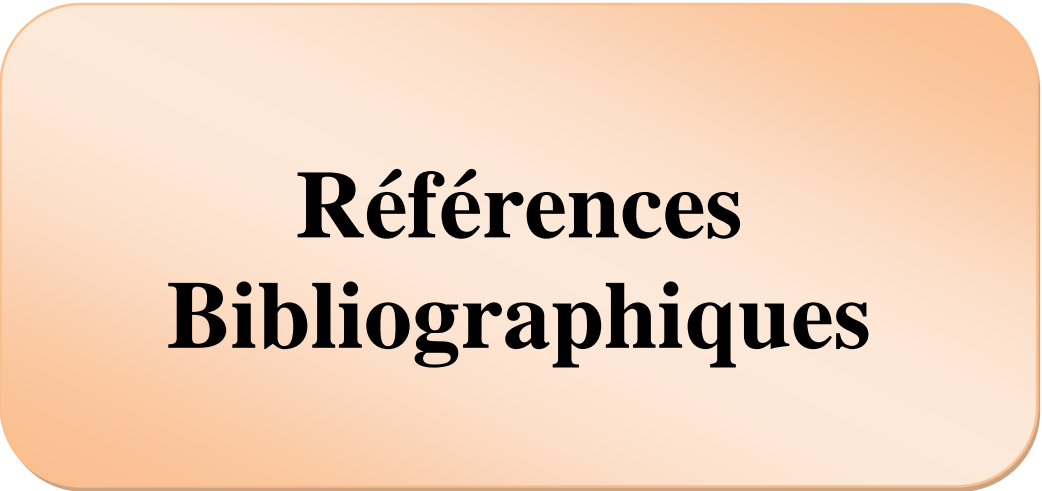
Pour la flore totale, on a constaté un taux très élevé dans les deux échantillons et qui dépasse la norme, cette flore peut être due à la charge initiale de lait, la méthode artisanale dont on a fabriqué le fromage qui a exposé notre produits ou différents germes d'altération, cependant on a enregistré une valeur élevée de la flore de l'**Ech2** (épicé) par rapport à la flore de première échantillon, cela peut être due aux épices (poivron, ail) ajoutés dans la préparation du fromage.

On distingue une flore lactique dominante dans les deux échantillons, le taux élevé de cette flore, est bénéfique pour le fromage, car ils sont les constituants majeurs de la microflore du fromage, leur fonction principale est de produire suffisamment d'acide lactique pendant la fabrication du fromage.

De plus, on a enregistré la présence de *Staphylococcus aureus* dans les deux échantillons du fromage, ce germe peut provenir, de l'animale suite à un manque d'hygiène des mamelles, du matériel utilisé pendant la traite ou du personnel qui a fabriqué ce fromage.

Nous avons constaté l'absence totale de *E. coli* dans les deux échantillons, qui peut être due à l'acidité du lait durant la fermentation, car ils sont sensibles au pH acide.

La caractérisation physico-chimique des deux échantillons du fromage a permis de d'obtenir un taux d'extrait sec de 25% pour l'**Ech1**, et un taux de 24,5% pour l'Ech2 épicé. Ils ont un pH de 4.15 pour l'**Ech1** et 4.31 pour l'Ech2 épicé.



**Références
Bibliographiques**

Références bibliographiques

AFNOR (Association Française de Normalisation) 1980 - Lait. Détermination de la matière sèche. NF VO4 207, In AFNOR (Ed.)

Bourgeois et Larpent., 1997. *Microbiologique alimentaire*, volum2. Collection science et technique agro-alimentaire, ISSN0243-5624. Microbiologie alimentaire, 562p.

Brulle G., Lenoir J .et Remeuf F., 1997.La micelle de caséine et la coagulation du lait *In* Le Fromage. Ed.,A .Eck , 3eme Ed .,Technique et documentation Lavoisier. Paris, 471p.

Casalta, et al 2001 : Caractérisation du fromage Bastelicaccia, *le lait* ,81 : 529-546 p.

Chamba J.F., Delacerois-Buchet A., Berdague J.L. et ClementJ.F .,1994.Une approche globale de la caractérisation des fromages : L'exemple du fromage de beaufort, *science des aliments* 14 :581-590.

Eck., 1987 .Le fromage, ED .Technologie et documentation ,539p .

FAO/OMS., 1990 (1978 modifié). Codex alimentarius n°6.chapitre 6 : Fromage : Définition et Classification.

Fox P.F .and Mcsweeney P.L.H.,2004. Cheese: an overview, pp. 1-19.In : Fox P.H . , Mcsweeney P.L.H. Cogan T.,Guinee T.(Eds), Cheese : Chemistry, Physics and microbiology .elseveier Academic Press, San Diego ,564p.

Fox P.P., COGAN T.M. and Mcsweeny P.L., 2000 .Fundamentals of cheese science .*Gaithersburg, MD: Aspen Publishers Inc.*

Références bibliographiques

Ghilis., 2006 . moleculer caractérisation of interleukin2 pp.85-178.

Guiraud J.P ., 2003 .Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris. 651p.

Horne D.S., 2002.Caseins, micellar structure *In:*Roginski.,Fuquay J.,and Fox P.F.(Eds), Encyclopedia of Dairy science (pp.1902-1909).London :Academic Press.

Mannue L., Comuniane R, scintu L.F., 2000. Mesophilique Lactobacilli in fioresardo. Cheese: PCR- identification and evolution during cheese ripenninge. *International dairy journal*, 10: 383-987.

Michel V., Hauwuy A et Chamba J.F., 2001. La flore microbienne de lait cru de vache : diversité et influence des conditions de production .*le lait*, 81 : 575-592.

Neville M.C. et JensenR.G. 1995.Hand book of milk, the physical proprieties of human and bovin milk. Ed JENSON. *Acadimica press*, 592p.

Paccalin, et galentier., 1985. Valeurs nutritionnelles du lait et produits laitières. In « qualité-énergie et lable de, Ed. Technique et documentation. 15: 243-910.

Pernodet., 1988. Technologie comparée des différents types de caillé. In. «Le fromage » ,58 : 695-842.

Références bibliographiques

Ramet J.P., 1987.La pressure et les enzymes coagulantes. In « le fromage » .Eck A. Ed. Technique et documentation, 58 : 695-842.

Renner., 1987. Nutritional aspects of Cheese milk. The vital force , pp.179-186.

Saoudi., 2012. Caractérisation microbiologique de la protéolyse du fromage traditionnelle « bouhezza », Université Mantouri Constantine, institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro alimentaires (INA) 25 : 485-695.

Senoussi., 2013.Caractérisation microbiologique de la peau de chèvre utilisation traditionnelle dans la fabrication du fromage Algérien « Bouhezza » 254p.

Serhane M., 2008. Valorisation durable des laits de chèvre de la région du Nord Liban. Transformation en fromage Darfiyeh et établissement de caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques en vue de la création d'une appellation d'origine. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine, 199p.

Zaidi O., 2002. Caractérisation physico-chimique et microbiologique du fromage traditionnel Bouhezza. Mémoire d'ingénieur, université Mentouri Constantine, 51p.

J. Hermier, J. Lenoir & F. Weber 1992. Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Edition CEPIL, Paris.

Annexes

1- Réactifs (Guiraud, 2003)

- **Hydroxyde de sodium (soude Dorique)**

-Hydroxyde de sodium.....5mg
 -Eau distillée stériles.....100ml

- **Phénolphtaléine à 1%**

-Phénolphtaleine.....1mg
 -Alcool à100ml

2-Milieus de culture (J.O.R.A ,1998)

-Milieu PCA (Plate Count Agar) :

-Tryptone5g
 -Estraitautolytique de levure.....2,5g
 -Glucose.....1g
 -Agar.....15g
 -Eau distillée.....1000ml

- Milieu de CHAPMAN :

Le milieu de CHAPMAN est un milieu sélectif pour la culture des staphylocoques, mais exceptionnellement d'autres germes peuvent y végéter.

Formule en gramme par litre d'eau distillée :

- Peptone Bactériologique10
 - Extrait de viande de bœuf1
 - Chlorure de sodium75
 - Mannitol..... 10
 - Rouge de phénol..... 0,025
 - Agar..... 15

pH 'final 7,5

- Milieu de Baird Parker (B.P.)

Les autres germes ne présentent pas les caractères décrits.

Le milieu de Baird Parker est un milieu sélectif qui permet l'isolement les souches de *Staphylococcus aureus* et le dénombrement des colonies.

Formule engrammes par litre d'eau distillée

- Hydrolysat trypsique de caséine.....10
 - Extrait de viande de boeuf5

- Extrait de levure.....	1
- Pyruvate de sodium	10
- Chlorure de lithium.....	5
- Glycolle.....	12
- Agar	20

pH final = 6,8 .

- Milieu de ROTHE :

Le milieu est utilisé pour la recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux.

Formule en gramme par litre d'eau distillée :

- Peptone	20
- Glucose.....	5
- Chlorure de sodium	5
- Phosphate bipotassique	2,7
- Phosphate monopotassique	2,7
- Azide de sodium (Azohydrate de sodium).....	0,2

- Milieu de LITSKY :

Le milieu de LITSKY à l'ethyl-violet et à l'azide est utilisé pour la recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux. Ce milieu sert au Test confirmatif.

Formule en gramme par litre d'eau distillée :

- Peptone.....	20
- Glucose	5
- Chlorure de sodium	5
- Phosphate bipotassique	2,7
- Phosphate monopotassique.....	2,7
- Azide de sodium	0,3
- Ethyl – violet.....	0,0005

pH final = 7

-Milieu O.G.A. (Gélose Glucosée à l'oxytétracycline) :(Orxytétracycline Glucose Agar = O.G.A.)

La gélose O.G.A. est utilisée pour la recherche et le dénombrement des levures et des moisissures dans les produits alimentaires.

Formule en gramme par litre d'eau distillée

- Extrait de levure	5
- Glucose.....	20
- Gélose	16

pH final 7

- Milieu MRS :

Il est utilisé pour le dénombrement de la flore lactique. (Flore spécifique du Yaourt) : en particulier les lactobacilles :

Formule :

-Peptone	10 g
- Extrait de viande	10 g
- Extrait de levure déshydraté	5 g
- Glucose	20g
- Ester oléique de sorbitol (tween 80)	1 ml
- Phosphate dipotassique	2g
- Acétate de sodium, 3 H ₂ O	5g
- Citrate diammonique	2 g
- Sulfate de magnésium 7 H ₂ O.....	0,2 g
- Sulfate de manganèse, 4 H ₂ O.....	0,05g
- Gélose	9 à 18g
- Eau distillée	1000 ml

-Milieu M17

Composition :

Peptone 1 (hydrolysate trypsique de caséine).....	2,50 g
Peptone 2 (hydrolysate pepsique de viande).....	2,50 g
Peptone 3 (hydrolysate papaenique de soja).....	5,00 g
Extrait de levure déshydratée.....	2,50 g
Extrait de viande.....	5,00 g

-Solution peptone :

Composition :

Peptone.....	1,0 g
Eau.....	1000 ml

Liste des figures

<i>Figure 1 : La région de fabrication du fromage Algérien Bouhezza « Ain fakroun » Sur la carte géographique.....</i>	<i>11</i>
<i>Figure 2 : Préparation des dilutions a partir de la solution mère.....</i>	<i>12</i>
<i>Figure 3 : Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile.....</i>	<i>13</i>
<i>Figure 4 : Dénombrement des lactobacilles.....</i>	<i>14</i>
<i>Figure 5 : Dénombrement des coliformes totaux.....</i>	<i>16</i>
<i>Figure 6 : Dénombrement des streptocoques totaux</i>	<i>18</i>
<i>Figure 7 : Dénombrement des streptocoques fécaux.....</i>	<i>18</i>
<i>Figure 8 : Dénombrement des staphylocoques</i>	<i>19</i>
<i>Figure 9 : Recherche des staphylococcus aureus</i>	<i>20</i>

Liste des tableaux

<i>Tableau I : Résultats des analyses microbiologiques de fromage Bouhezza.....</i>	<i>24</i>
<i>Tableau II : Résultats des analyses physico-chimiques des deux échantillons du fromage bouhezza.....</i>	<i>28</i>
<i>Tableau III : Tableau de Mac Grady (en annexe)</i>	

Résumé :

Ce travail a pour objectif principale une contribution à la caractérisation au point de vue microbiologique et physico-chimique du Bouhezza fromage traditionnel Algérien.

Une image globale des communautés bactériennes de Bouhezza est réalisée, d'après les résultats d'analyses, on a constaté une dominance totale la flore totale aérobie mésophile qui peut être due ou manque de condition d'hygiène ou bien à la charge initiale du lait, ainsi la flore lactique qui domine aussi le milieu car elle représente les constituants majeurs du fromage. En revanche l'absence d'une flore hautement pathogène comme *E. coli* est probablement lié à sa faible résistance à l'acidité du lben ajouté durant la fabrication du fromage.

La présence de *Staphylococcus aureus* dans les échantillons du fromage prouve d'une contamination qui peut être due soit à la flore de l'animale, ou bien de la flore de manipulateur

Sur le plan physico-chimique, concernant la matière sèche, d'après les recherches qu'on a faites on a constaté un taux de matière sèche bas, qui peut être due soit à la variation en extrait sec (protéines, matières grâces), soit à la vitesse d'égouttage ou bien elle dépend aussi de la période de fabrication. Ce pourcentage bas en matière sèche, implique un taux élevé en humidité dans le fromage, qui veut dire que notre fromage est très humide.

Mots clé : Microbiologique, physico-chimique, flore, *Staphylococcus aureus*, bactériennes, mésophile.

Abstract:

This work has paid main objective in June contribution to the characterization in microbiological and chemical point of view physique Bouhezza-Algerian traditional cheese.

A comprehensive picture of Bouhezza is made of bacterial communities, according to the results of analyzes, a total domination of June FINDS total mesophilic aerobic flora Who can be due or lack of hygiene or well to the initial load of milk, the lactic flora So Who dominates the middle car too she Represents Major constituents cheese.

However, no one highly pathogenic flora *E. coli* is probably Lie as a Low resistance to its acidity lben added during cheese making.

The presence of *Staphylococcus aureus* cheese samples show contamination Who can be due either to the flora of the animal, although the manipulator e Flora on the physicochemical plan concerning dry matter, according to the Council Whether a non-Make a low dry matter content, Who Can Be Either a variation due NOTES extracts SEC (proteins, materials Thanks) or at the rate of drainage well oralsoit will depend manufacturing period. This percentage, low dry matter involves not Rate High moisture in the cheese, Who Wants What say our cheese is very moist.